

**KAJIAN MORFOLOGI DAN ANALISIS GENETIK  
BAGI VARIAN PADI ANGIN DAN PADI  
KULTIVAR (MR 211 dan MR 220)  
DI KAWASAN MADA,  
MALAYSIA**

**FARIDAH BINTI CHE HASHIM**

**UNIVERSITI SAINS MALAYSIA  
Julai 2011**

**KAJIAN MORFOLOGI DAN ANALISIS GENETIK  
BAGI VARIAN PADI ANGIN DAN PADI  
KULTIVAR (MR 211 dan MR 220)  
DI KAWASAN MADA,  
MALAYSIA**

**oleh**

**FARIDAH BINTI CHE HASHIM**

**Tesis yang diserahkan untuk memenuhi keperluan  
bagi Ijazah Doktor Falsafah (Bioteknologi)**

**UNIVERSITI SAINS MALAYSIA  
Julai 2011**

## PENGHARGAAN

Alhamdulillah bersyukur ke hadrat Allah s.w.t kerana dengan izinNya dapat saya menyiapkan kajian dan penulisan tesis ini walaupun dengan pelbagai ujian dan cabaran yang dilalui. Namun, banyak pengalaman, pengetahuan serta kemahiran yang diperolehi semasa menyiapkan tesis ini. Dalam mengharungi pelbagai dugaan dan rintangan sepanjang pengajian ini, kesabaran dan ketabahan adalah amat perlu.

Setinggi-tinggi penghargaan dan kalungan jutaan terima kasih yang tak terhingga kepada penyelia utama saya, Professor Madya Dr. Ahmad Sofiman bin Othman dan penyelia bersama, Professor Madya Dr. Mohd. Razip bin Samian atas segala khidmat nasihat, tunjuk ajar, panduan, galakan serta motivasi yang berterusan diberikan kepada saya dari masa ke semasa dalam membantu menyiapkan penghasilan kajian dan penulisan tesis ini. Di samping segala kemudahan makmal, bahan dan alat radas yang disediakan, kemudahan-kemudahan lain juga amat banyak membantu saya dalam menyiapkan kajian ini tanpa menghadapi banyak masalah yang major.

Seterusnya, ucapan penghargaan dan terima kasih atas kerjasama, motivasi, bantuan, tunjuk ajar, doa, sokongan moral dan panduan yang telah diberikan tanpa mengira masa sepanjang pengajian ini saya tujukan kepada :

- Bahagian Biasiswa Kementerian Pelajaran Malaysia atas anugerah tawaran biasiswa kepada saya yang membiayai sepenuhnya pengajian peringkat kedoktoran ini
- Pengarah dan rakan-rakan di IPG Kampus Pulau Pinang
- semua pensyarah dan staf Pengurusan USM kerana menyediakan kemudahan dan peluang pengajian di USM
- Staf MARDI Kepala Batas, Dr. Azmi bin Man, Encik Abdullah bin M. Zain dan En.Zarullail bin Sansuri dari MADA Alor Setar, Kedah
- adik-adik dan rakan di Makmal 409 (Ana, Mag, Lai, Zue, Din, Mazlan, Rin, Komala, Encik Zainuddin dan lain-lain) serta Makmal 308 (Emi, Ana, Katie, Jam dan lain-lain), dan
- semua individu yang secara langsung dan tidak langsung telah membantu saya

Akhir sekali, penghargaan dan ucapan terima kasih yang tidak terhingga buat suami tercinta, Mej. Haji Aznan bin Mohd.Azoddein serta putera dan puteri yang dikasihi, Amir Izzuddin, Anis Izzati, Ahmad Azamuddin dan Anas Imaduddin atas segala sokongan moral, doa, dorongan, bantuan, motivasi dan pengertian kalian semua sepanjang kesibukan menyiapkan kajian dan tesis ini. Buat Bonda HjH 'Aliah binti Idris dan semua ahli keluarga .....terima kasih yang tak ternilai atas iringan doa dan kesabaran dalam menanti kejayaan ini. Buat Allahyarham ayahanda Haji Che Hashim bin Che Daud, semoga roh ayahanda sentiasa dicucuri rahmat Allah dan di tempatkan dalam Jannah...

## TERIMA KASIH

## ISI KANDUNGAN

Muka surat

|                        |       |
|------------------------|-------|
| Penghargaan            | ii    |
| Isi Kandungan          | iii   |
| Senarai Jadual         | vii   |
| Senarai Rajah          | ix    |
| Senarai Gambarfoto     | xi    |
| Senarai Singkatan Kata | xiv   |
| Senarai Apendiks       | xv    |
| Abstrak                | xvi   |
| Abstract               | xviii |

### **BAB SATU:      PENGENALAN**

|     |                       |   |
|-----|-----------------------|---|
| 1.1 | Pengenalan Padi Angin | 1 |
| 1.2 | Objektif Kajian       | 4 |

### **BAB DUA:      TINJAUAN BAHAN BACAAN**

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 2.1 | <i>Oryza sativa</i> kompleks (Padi angin)                              | 6  |
| 2.2 | Status <i>Oryza sativa</i> kompleks di Dunia                           | 8  |
| 2.3 | Padi Angin di Malaysia   | 10 |
| 2.4 | Kajian Morfologi Varian Padi Angin                                     | 16 |
| 2.5 | Penanda DNA dalam Kajian Genetik                                       | 23 |
| 2.6 | Beberapa Kajian Molekul Genetik Padi Angin dan Padi Komersial di Dunia | 28 |

|                  |   |    |
|------------------|---|----|
| <b>BAB TIGA:</b> | <b>BAHAN DAN KAEDAH</b>   |    |
| 3.1              | Pendahuluan   | 32 |
| 3.2              | Analisis Morfologi Varian-varian Padi Angin dan Kultivar Padi Komersial   | 32 |
| 3.2.1            | Pencirian Morfologi di Plot Tanaman Padi Kawasan MADA   | 32 |
| 3.2.2            | Penanaman Biji benih Padi dalam Rumah Tanaman   | 37 |
| 3.2.3            | Pemerhatian terhadap Morfologi Varian Padi Angin dan Padi Komersial   | 38 |
| 3.3              | Analisis Genetik Menggunakan DNA Mikrosatelit terhadap Varian Padi Angin dan Padi Komersial MR 211 serta MR 220               | 40 |
| 3.3.1            | Pengekstrakan DNA   | 40 |
| 3.3.2            | Kualiti dan Kuantiti Genom DNA  | 43 |
| 3.3.3            | Elektroforesis Gel  | 44 |
| 3.3.4            | Elektroforesis Gel Agarosa 0.8%   | 45 |
| 3.3.5            | Elektroforesis Gel Agarosa 2%   | 46 |
| 3.3.6            | Elektroforesis Gel Poliakrilamida 6% Tak Ternyahasli  | 47 |
| 3.3.7            | Pengoptimuman Tindakbalas Amplifikasi DNA Mikrosatelit  | 49 |
| 3.3.8            | Tindak balas PCR bagi Amplifikasi DNA Mikrosatelit  | 53 |
| 3.4              | Analisis Genetik Menggunakan DNA Mikrosatelit terhadap Varian Padi Angin paling Dominan iaitu dari Jenis Panikel Tertutup (T) | 55 |
| 3.5              | Analisis Data   | 56 |

## BAB EMPAT: KEPUTUSAN

|           |  |     |
|-----------|--|-----|
| 4.1       | Pendahuluan  | 59  |
| 4.2       | Analisis Morfologi   | 59  |
| 4.2.1     | Padi <i>Oryza sativa</i> L. dan Padi <i>Oryza sativa</i> Kompleks                                    | 59  |
| 4.2.2     | Kitar Hayat <i>Oryza sativa</i>  | 61  |
| 4.2.3     | Analisis Komponen Prinsipal (PCA)  | 67  |
| 4.2.4     | Analisis Kesignifikanan ANOVA  | 68  |
| 4.3       | Analisis Genetik Menggunakan Pencetus (Lokus) DNA Mikrosatelit                                       | 72  |
| 4.3.1     | Kajian Inter Varian bagi Varian-varian Padi Angin , Kultivar MR 211 dan MR 220                       | 72  |
| 4.3.1.1   | Pengekstrakan DNA setiap Varian Padi Angin dan Kultivar  | 72  |
| 4.3.1.2   | Produk Analisis Tindakbalas Berantai Polymerase (PCR) DNA Mikrosatelit                               | 74  |
| 4.3.1.2.1 | Hasil Proses Pengoptimuman DNA Mikrosatelit  | 74  |
| 4.4       | Analisis Variasi Genetik   | 79  |
| 4.4.1     | Variasi Genetik Inter Varian (Varian-varian Padi Angin serta Kultivar Padi Komersial)                | 79  |
| 4.4.1.1   | Ujian Keseimbangan Hardy-Weinberg (HWE) Inter Varian   | 91  |
| 4.4.2     | Agihan Individu dalam Kelompok mengikut Varian- variannya  | 93  |
| 4.4.3     | Kajian Variasi Genetik Inter Varian bagi Padi Angin paling Dominan iaitu Varian Panikel Tertutup (T) | 97  |
| 4.4.3.1   | Penentuan Varian paling Dominan (T)  | 97  |
| 4.4.3.2   | Analisis Variasi Genetik Intra Varian  | 101 |
| 4.4.3.3   | Ujian Keseimbangan Hardy-Weinberg (HWE) Intra Varian   | 114 |
| 4.4.3.4   | Agihan Individu Varian Padi Angin T dalam kelompok   | 115 |

|                  |   |     |
|------------------|---|-----|
| <b>BAB LIMA:</b> | <b>PERBINCANGAN</b>   |     |
| 5.1              | Morfologi Padi Angin dan Padi Komersial                                 | 119 |
| 5.2              | Analisis Genotip Varian Padi  | 124 |
| 5.2.1            | Pengskoran Data   | 124 |
| 5.2.2            | Variasi Genetik Inter Varian  | 125 |
| 5.2.2.1          | Heterozigositi Varian Padi  | 125 |
| 5.2.2.2          | Pengkelasan Individu Varian Padi  | 131 |
| 5.2.3            | Analisis Genetik Intra Varian Padi Angin T (dominan)                    | 133 |
| 5.2.3.1          | Heterozigositi Padi Angin Panikel Tertutup                              | 133 |
| 5.2.3.2          | Pengkelasan Individu Padi Angin Panikel Tertutup mengikut Lokasi-lokasi | 141 |
| <b>BAB ENAM:</b> | <b>RUMUSAN</b>  | 143 |
|                  | <b>RUJUKAN</b>  | 148 |
|                  | <b>APENDIKS 1</b>   | 160 |
|                  | <b>APENDIKS 2</b>   | 161 |
|                  | <b>APENDIKS 3</b>   | 172 |
|                  | <b>APENDIKS 4</b>   | 182 |
|                  | <b>APENDIKS 5</b>   | 203 |
|                  | <b>SEMINAR/<br/>KONFERENS</b>   | 212 |

## SENARAI JADUAL

|  | Muka surat |
|--|------------|
| 2.1 Klasifikasi taksonomi padi angin   | 6          |
| 2.2 Ciri-ciri yang dipamirkan oleh varian-varian padi angin di Vietnam   | 17         |
| 2.3 Ciri-ciri morfologi yang dipamerkan oleh padi angin dalam kajian lampau  | 23         |
| 3.1 Nama singkatan bagi setiap varian padi angin dan padi komersial  | 35         |
| 3.2 Ciri-ciri yang digunakan untuk perbandingan Varian padi berdasarkan <i>Standard Evaluation System</i> (SES)  | 36         |
| 3.3 Pemerhatian ciri morfologi dan tarikh merekod data bagi varian-varian padi dari kawasan MADA   | 39         |
| 3.4 Senarai pencetus yang digunakan dalam kajian.  | 51         |
| 3.5 Profil pengoptimuman tindakbalas mikrosatelit  | 52         |
| 3.6 Profil Amplifikasi DNA Mikrosatelit  | 53         |
| 3.7 Nama singkatan bagi setiap populasi padi angin varian T dan jumlah sampel yang diekstrak   | 55         |
| 4.1 Data min analisis morfologi bagi varian-varian padi angin dan dua jenis kultivar padi komersial  | 63         |
| 4.2 Analisis ANOVA bagi kesemua sepuluh varian padi angin dan dua varian kultivar padi komersial   | 70         |
| 4.3 Analisis ANOVA bagi kesemua individu varian padi angin (sebagai satu kumpulan) dan kesemua individu kultivar padi komersial (sebagai satu kumpulan)  | 71         |
| 4.4 Suhu penyepuhan optimum ( $T_a$ ) dan kepekatan $MgCl_2$ yang paling sesuai bagi semua tiga belas pencetus mikrosatelit DNA yang digunakan untuk sepuluh varian padi angin dan dua kultivar padi komersial | 75         |
| 4.5 Frekuensi dan saiz alel bagi sepuluh varian padi angin dan dua varian kultivar padi komersial yang ditanam di kawasan MADA pada tiga belas lokus mikrosatelit  | 80         |



|      |   |     |
|------|---|-----|
| 4.6  | Variasi genetik pada tiga belas lokus mikrosatelit bagi dua belas varian padi angin dan padi komersial yang dikaji di kawasan MADA. $N_a$ , nombor alel, $H_o$ , heterozigositi yang dicerap, $H_e$ , heterozigositi yang dijangka. | 88  |
| 4.7  | Nilai-nilai $H_o$ , $H_e$ dan <i>Chi Kuasa dua</i> ( $x^2$ ) bagi setiap lokus dalam kajian inter varian  | 92  |
| 4.8  | Pembentukan kelompok-kelompok berdasarkan nilai bahagian dominasi varian padi   | 95  |
| 4.9  | Varian padi angin di kawasan MADA dengan nilai Indeks Dominan Berger-Parker ( $D_{BP}$ )  | 98  |
| 4.10 | Frekuensi dan saiz alel bagi padi angin yang dominan iaitu jenis Panikel Tertutup di sepuluh populasi Kawasan MADA pada tiga belas lokus mikrosatelit   | 103 |
| 4.11 | Variasi genetik pada 13 lokus mikrosatelit bagi sepuluh populasi padi angin varian panikel Tertutup (T) ( $N_a$ , nombor alel, $H_o$ , heterozigositi yang dicerap, $H_e$ , heterozigositi yang dijangka)                           | 108 |
| 4.12 | Nilai-nilai $H_o$ , $H_e$ dan <i>Chi Kuasa dua</i> ( $x^2$ ) bagi setiap lokus dalam kajian intra varian padi angin   | 114 |
| 4.13 | Pembentukan kelompok-kelompok berdasarkan nilai bahagian dominasi varian padi   | 117 |

## SENARAI RAJAH

|   | Muka surat |
|---|------------|
| 2.1 Taburan kawasan tanaman padi di Semenanjung Malaysia  | 12         |
| 3.1 Sepuluh lokasi persampelan padi angin yang dikaji di kawasan MADA meliputi negeri Kedah dan Perlis  | 33         |
| 4.1 Kitar hayat pertumbuhan padi angin dan padi komersial mengikut pemerhatian bilangan hari selepas semaian bagi varian-varian yang ditanam  | 62         |
| 4.2 Pertalian dan kedudukan sepuluh varian padi angin, kultivar MR 211 dan MR 220 terhadap ciri-ciri morfologi mengikut analisis komponen prinsipal (PCA)   | 68         |
| 4.3 Saiz alel (pb) yang terhasil pada 13 lokus (pencetus) yang digunakan terhadap varian-varian padi angin dan kultivar padi komersial  | 84         |
| 4.4 Dendrogram hasil analisis genetik <i>Neighbour Joining</i> bagi varian-varian padi angin dan kultivar MR 211 serta MR 220 pada 13 lokus. Nilai butstrap (1000 replikasi) diberikan di bawah cabang-cabang utama pepohon bagi kesemua varian padi angin dan kultivar padi komersial.             | 86         |
| 4.5 Min $L(K)$ (+/- SD) selepas 25 pusingan dengan nilai $K$ untuk setiap pusingan diperolehi pada graf   | 95         |
| 4.6 Pengiraan $\Delta K = m L''(K)  / s[L(K)]$ dengan nilai puncak tertinggi graf pada $K = 15$   | 96         |
| 4.7 Graf hasil analisis STRUCTURE 2.2 menunjukkan pembentukan 15 kelompok bagi sepuluh varian padi angin dan dua kultivar padi komersial dengan 'burning length' sebanyak 25,000.   | 96         |
| 4.8 Saiz alel (pb) yang terhasil pada 13 lokus (pencetus) yang digunakan terhadap varian padi angin paling dominan (varian T) di kawasan penanaman padi MADA  | 107        |
| 4.9 Dendrogram hasil analisis genetik <i>Neighbour Joining</i> bagi populasi varian padi angin panikel Tertutup (T) dari sepuluh lokasi MADA pada 13 lokus. Nilai butstrap (1000 replikasi) diberikan di bawah cabang-cabang utama pepohon bagi kesemua populasi varian padi angin T dalam nilai %. | 113        |

|      |   |     |
|------|---|-----|
| 4.10 | Min $L(K)$ (+/- SD) selepas 15 pusingan dengan nilai K untuk setiap pusingan  | 117 |
| 4.11 | Pengiraan $\Delta K = m L''(K)  / s[L(K)]$ dengan nilai puncak tertinggi graf pada $K = 11$   | 118 |
| 4.12 | Graf hasil analisis STRUCTURE 2.2 menunjukkan pembentukan 11 kelompok bagi sepuluh populasi padi angin varian T dengan <i>burning length</i> sebanyak 25,000. | 118 |
| 5.1  | Menunjukkan pertalian sifat genotip intra varian bagi varian padi angin T dari sepuluh populasi persampelan di kawasan MADA                                   | 138 |

## SENARAI GAMBARFOTO

|   | Muka surat |
|---|------------|
| 2.1 Kawasan sawah padi didominasi oleh populasi padi angin di Kobah, Kedah.   | 14         |
| 2.2 Padi angin panikel terbuka yang mudah relai apabila dikenakan sedikit tekanan   | 16         |
| 2.3 Keadaan pokok padi angin yang jelas lebih tinggi berbanding dengan padi komersial di kawasan MADA   | 18         |
| 2.4 Pokok padi angin panikel terbuka dan berjanggut kelihatan jelas lebih tinggi dari padi komersial  | 19         |
| 2.5 Kultivar <i>Oryza sativa</i> MR220 yang matang dan sedia untuk dituai   | 19         |
| 2.6 Biji-biji padi yang mempamerkan perikap berpigmen dengan panikel Tertutup   | 22         |
| 4.1 Biji benih padi angin dengan panjang (dalam ukuran <i>cm</i> ) janggut yang berbeza   | 64         |
| 4.2 Varian pokok padi angin yang lebih tinggi, mempunyai tangkai buah yang terbuka, biji berjanggut , berpigmen dan kurang padat dari padi kultivar MR 220 di kawasan MADA  | 64         |
| 4.3 Varian pokok padi angin yang lebih tinggi, mempunyai tangkai buah terbuka dan kurang padat dari padi kultivar MR 220 di kawasan MADA  | 65         |
| 4.4 Tanaman padi MR 220 di kawasan Kobah dengan infestasi padi angin panikel terbuka yang lebih tinggi daripada padi komersial  | 66         |
| 4.5 Kehadiran pigmen pada biji benih bagi tiga individu padi angin varian panikel terbuka dan biji benih berpigmen  | 66         |
| 4.6 Hasil pengekstrakan sampel DNA B1, T1, BP1, TP1,BJ1, TJ1 melalui kaedah asas pemencilan CTAB (Doyle & Doyle, 1987) setelah melalui elektroforesis 0.8% gel agarosa dengan penanda DNA <i>Lambda/ Hind III</i> (M) | 73         |

|      |  |    |
|------|--|----|
| 4.7  | Hasil pengekstrakan sampel DNA BJP1, BJM1, TJM2, MA1, MA2, MR1 dan MR2 melalui kaedah asas pemencilan CTAB (Doyle & Doyle, 1987) setelah melalui elektroforesis 0.8% gel agarosa.  | 73 |
| 4.8  | Hasil pengoptimuman pencetus RM336 pada sampel DNA padi angin varian Panikel Terbuka dengan Biji Berjanggut (BJ1) dengan kepekatan $MgCl_2$ 1.5 mM dan 2.0 mM. M ialah penanda 100 pb DNA Ladder setelah melalui elektroforesis gel agarosa 2%. Telaga 1 hingga 12 adalah dengan suhu penyepuhan 50.0°C, 50.4°C, 51.3°C, 52.0 °C, 54.2°C, 56.4°C, 58.9°C, 61.0°C, 62.7°C, 63.9°C, 64.7°C dan 65.0°C                      | 77 |
| 4.9  | Hasil pengoptimuman pencetus RM336 pada sampel DNA padi angin varian Panikel Terbuka dengan Biji Berjanggut (BJ1) dengan kepekatan $MgCl_2$ 2.5 mM dan 3.0 mM. M ialah penanda 100 pb DNA Ladder setelah melalui elektroforesis gel agarosa 2%. Telaga 1 hingga 12 adalah dengan suhu penyepuhan 50.0°C, 50.4°C, 51.3°C, 52.0 °C, 54.2°C, 56.4°C, 58.9°C, 61.0°C, 62.7°C, 63.9°C, 64.7°C dan 65.0°C                      | 77 |
| 4.10 | Gambar elektroforesis gel poliakrilamida 6 % dari hasil amplifikasi pencetus RM 336 terhadap 18 sampel DNA padi angin varian Panikel Tertutup dengan Biji Pigmen (TP1- TP18). M di sebelah kiri dan kanan menunjukkan penanda 20 pb <i>extended</i> DNA Ladder. Jalur yang paling terang pada penanda M menunjukkan alel bersaiz 200 pb sebagai rujukan untuk menentukan saiz alel yang terhasil selepas amplifikasi.    | 78 |
| 4.11 | Gambar elektroforesis gel poliakrilamida 6% dari hasil amplifikasi pencetus RM 336 terhadap 20 sampel DNA padi angin varian Panikel Tertutup dengan Biji Berjanggut (TJ1- TJ20). M di sebelah kiri dan kanan menunjukkan penanda 20 pb <i>extended</i> DNA Ladder. Jalur yang paling terang pada penanda M menunjukkan alel bersaiz 200 pb sebagai rujukan untuk menentukan saiz alel yang terhasil selepas amplifikasi. | 78 |

|      |   |     |
|------|---|-----|
| 4.12 | Gambar elektroforesis gel poliakrilamida 6% dari hasil amplifikasi pencetus RM 101 terhadap 18 sampel DNA padi angin varian Panikel Terbuka (B1-B3), varian Terbuka Pigmen(BP1-BP3), varian Terbuka Janggut (BJ45-B47), varian padi komersial MR 211 (MA27-MA29), varian padi angin Panikel Tertutup Janggut (TJ35-TJ37) dan varian padi komersial MR 220 (MR30 – MR 32). M di sebelah kiri dan kanan menunjukkan penanda 20 pb <i>extended</i> DNA Ladder. Jalur yang paling terang pada penanda M menunjukkan alel bersaiz 200 pb sebagai rujukan untuk menentukan saiz alel yang terhasil selepas amplifikasi. | 79  |
| 4.13 | Hasil pengestrakan sampel DNA (Guar Cempedak) GC1-GC5 dan (Tunjang) T1-T5 melalui kaedah asas pemencilan CTAB (Doyle & Doyle, 1987) setelah melalui elektroforesis 0.8% gel agarosa dengan penanda DNA <i>Lambda/ Hind III</i> (M).   | 99  |
| 4.14 | Gambar elektroforesis gel poliakrilamida 6% dari hasil amplifikasi pencetus RM 332 terhadap 20 sampel DNA padi angin dari populasi Kangar (K1-K20). M di sebelah kiri dan kanan menunjukkan penanda 20 pb <i>extended</i> DNA Ladder. Jalur yang paling terang pada penanda M menunjukkan alel bersaiz 200 pb sebagai rujukan untuk menentukan saiz alel yang terhasil selepas amplifikasi.   | 100 |
| 4.15 | Gambar elektroforesis gel poliakrilamida 6% dari hasil amplifikasi pencetus RM 267 terhadap 20 sampel DNA padi angin dari populasi Kangar (K1-K20) yang gagal diamplifikasikan. M di sebelah kiri dan kanan menunjukkan penanda 20 pb <i>extended</i> DNA Ladder. Jalur yang paling terang pada penanda M menunjukkan alel bersaiz 200 pb sebagai rujukan untuk menentukan saiz alel yang terhasil selepas amplifikasi.   | 100 |

## SENARAI SINGKATAN PERKATAAN

|                    |  |
|--------------------|--|
| $^{\circ}\text{C}$ | <i>Celcius</i>                                   |
| AFLP               | Polimorfisme Panjang Serpihan<br>Teramplifikasi  |
| pb                 | Pasangan bes                                     |
| $\text{CaCl}_2$    | Kalsium Klorida                                  |
| DNA                | <i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>                  |
| dNTP               | <i>Deoxyribonucleotide triphosphates</i>         |
| EDTA               | <i>Ethylene diaminetetraacetic acid</i>          |
| Kbp                | Kilo <i>base pair</i> (s)                        |
| M                  | Penanda  |
| $\text{MgCl}_2$    | Magnesium Klorida                                |
| $\text{NaCl}$      | Natrium Klorida                                  |
| OD                 | Ketumpatan Optik                                 |
| P                  | Kebarangkalian                                   |
| PCR                | Tindak Balas Rantaian Polimerase                 |
| RAPD               | Polimorfisme DNA Rawak<br>Teramplifikasi         |
| RFLP               | Polimorfisme Kepanjangkan<br>Serpihan Pembatasan |
| rpm                | Revolusi seminit                                 |
| S.E.               | Ralat piawai                                     |
| SDS                | <i>Sodium Deocyl Sulphate</i>                    |
| SSR                | Jujukan Ulangan Ringkas                          |
| STS                | Jujukan Urutan Pendek                            |
| $T_m$              | Suhu lebur                                       |
| TBE                | <i>Tris- Borate-EDTA</i>                         |
| TE                 | Tris-EDTA  |
| TEMED              | N,N,N',N'-<br>tetramethylethylenediamine         |
| UV                 | Ultra ungu                                       |
| V                  | Voltan   |
| v/v                | isipadu/isipadu                                  |
| VNTR               | Ulangan Tandem Berbagai<br>Bilangan              |
| w/v                | jisim/isipadu                                    |
| NJ                 | Hubungan jiran<br>( <i>Neighbour Joining</i> )   |

## **SENARAI APENDIKS**

|            |   |
|------------|---|
| Apendiks 1 | Jadual Kutipan sampel bagi varian-varian padi angin di kawasan MADA   |
| Apendiks 2 | Profil mikrosatelit yang telah ditukar dalam bentuk alfabet bagi kegunaan analisis data perisian POPGENE Version 1.32 untuk kajian inter varian |
| Apendiks 3 | Profil mikrosatelit yang telah ditukar dalam bentuk alfabet bagi kegunaan analisis data perisian POPGENE Version 1.32 untuk kajian intra varian |
| Apendiks 4 | Inter Varian: Pengagihan semua individu dalam populasi (Q) yang terbahagi kepada 15 kelompok  |
| Apendiks 5 | Intra Varian: Pengagihan semua individu dalam populasi (Q) yang terbahagi kepada 11 kelompok  |



**KAJIAN MORFOLOGI DAN ANALISIS GENETIK BAGI VARIAN PADI ANGIN  
DAN PADI KULTIVAR (MR 211 dan MR 220)  
DI KAWASAN MADA,  
MALAYSIA**

**ABSTRAK**

Infestasi padi angin, *Oryza sativa* kompleks, adalah serius, terutamanya di kawasan sawah yang mengamalkan kaedah tabur terus. Varian padi angin mempunyai ciri morfologi yang seiras dengan padi komersial dan sukar dikawal pertumbuhannya berbanding rumpai lain. Oleh yang demikian, kajian varian-varian padi angin dan padi komersial MR 211 dan MR 220 dari plot-plot tanaman padi di kawasan MADA telah dilaksanakan. Kajian yang telah dijalankan melibatkan tiga bahagian; i) analisis morfologi bagi varian-varian padi angin dan padi komersial MR 211 serta MR 220, ii) analisis genetik menggunakan penanda DNA mikrosatelit terhadap varian-varian padi angin dan padi komersial MR 211 serta MR 220 dan iii) analisis genetik menggunakan penanda DNA mikrosatelit terhadap varian padi angin paling dominan di kawasan MADA. Perbezaan dan persamaan ciri-ciri morfologi yang diperhatikan ialah panjang janggut biji benih bagi varian berjanggut, ketinggian pokok, bilangan jumlah panikel, panjang internod, berat bagi 1000 biji padi yang matang, warna perikap biji padi, arah daun pengasuh pokok padi dan bilangan hari tempoh biji padi matang. Analisis data morfologi untuk 50 individu dari 10 varian padi angin yang dijumpai di MADA dan juga dua jenis kultivar MR 211 dan MR 220 melalui Analisis Komponen Prinsipal (PCA) menunjukkan bahawa kesemua sampel yang dikaji terbahagi kepada empat kumpulan besar (K1, K2, K3 dan K4). Kajian inter varian menggunakan DNA mikrosatelit ke atas 10 varian padi angin serta dua jenis padi kultivar MR211 dan MR220 telah berjaya dijalankan. Analisis STRUCTURE 2.2, mencadangkan terdapat 15 kumpulan (K=15) yang berbeza

secara genetik hadir di kawasan MADA. Varian padi angin yang paling dominan yang ditentukan melalui pengiraan Indeks Spesies Dominan Berger-Parker ialah varian panikel tertutup (T). Analisis DNA mikrosatelit ke atas 500 individu varian ini dari 10 lokasi berbeza di MADA menunjukkan nilai K tertinggi ialah 11 ( $K=11$ ). Kajian yang dijalankan ini telah dapat mengenalpasti ciri-ciri persamaan dan perbezaan serta hubungan genetik antara varian-varian padi angin dan padi komersial. Hasil kajian ini diharapkan dapat memberi maklumat kepada penyelidik lain tentang morfologi dan genetik padi angin secara terperinci dalam usaha mereka mengatasi infestasi yang berleluasa di kawasan MADA.

**MORPHOLOGICAL RESEARCH AND GENETIC ANALYSIS FOR WEEDY RICE  
VARIANTS AND CULTIVARS (MR 211 and MR 220)  
AT THE MADA AREA,  
MALAYSIA**

**ABSTRACT**

Infestation of the weedy rice, *Oryza sativa* complex was serious, mainly in the direct-seeded rice fields. These weedy rice variants possess similar morphological characteristics with cultivated commercial rice and difficult to control their growth as compared to other weeds. Therefore, a study on the weedy rice variants and the commercial rice MR211 and MR220 from the rice granary areas of MADA was conducted. The study involved three sections; i) morphological analysis of the weedy rice variants and the commercial rice MR211 and MR220, ii) genetic analysis of the weedy rice variants and the commercial rice MR211 and MR220 by using the microsatellite DNA markers and iii) genetic analysis of the most dominant variant of weedy rice found at the MADA area by using the microsatellite DNA markers. The similarities and differences of the observed morphological characteristics were the length of awn for the awned variant, plant height, number of panicles, length of internodes, weight of 1000 matured seeds, colour of pericarp, direction of the flag leaf and the maturation days. Morphological analysis for 50 individuals of 10 weedy rice variants and the two cultivars, MR211 and MR220 found at the MADA area by using the Principal Component Analysis (PCA) showed that the sampled individuals were divided into four main groups (K1, K2, K3 and K4). The study of inter variant by using the microsatellite DNA on 10 weedy rice variants and the rice cultivars, MR211 and MR220 were successfully conducted. Analysis done using the STRUCTURE 2.2 suggested there are 15 genetically different groups (K=15)

(variants) within the MADA area. The most dominant weedy rice variant identified by using the Berger-Parker Species Dominant Index was the compact panicle (T) variant. The microsatellite DNA analysis of 500 individuals sampled from 10 different locations of MADA showed the highest value of K is 11 ( $K=11$ ). The study conducted has identified the similarities and differences between the weedy rice and the commercial rice characteristics as well as their genetic relationships. The findings of this study are hoped to provide detailed morphology and genetic information of the weedy and commercial rice variants for future researchers, in order to overcome the infestation of the weedy rice at the MADA rice growing area.

# **BAB SATU**

## **PENGENALAN**

### **1.1 Pengenalan Padi Angin**

Padi angin (*Oryza sativa* kompleks) adalah sejenis rumpai yang menyerupai padi komersial yang ditanam. Ia bertabur dengan luas di kawasan tanaman padi di seluruh dunia terutamanya di Asia Selatan, Asia Tenggara, Amerika dan Eropah Selatan (Bakar *et al.*, 2002). Namun, padi angin dapat dibezakan daripada padi biasa melalui beberapa sifat seperti, biji benihnya yang mudah lerai dan mempunyai sifat kedormanan yang tinggi (Gealy, 2005; Bres-Patry *et al.*, 2001). Secara fisiologi dan biologi, padi angin adalah mirip kepada padi kultivar yang ditanam oleh petani-petani dari segi ciri-ciri pertumbuhan, kepelbagaian morfologi, taksonomi serta diversitinya (Bakar, 2004 ; Bakar *et al.*, 2000; Kwon *et al.*, 1992). Keadaan ini berlaku kerana adanya aliran gen dalam evolusi benih-benih padi melalui hibridisasi secara semulajadi antara padi liar dan padi komersial (Song *et al.*, 2002 ; Vaughan & Morishima, 2001; Morishima & Oka, 1995 ; Langevin *et al.*, 1990).

Kebanyakan padi angin mempunyai biji dengan perikarp yang berwarna merah dan sering dikenali sebagai padi merah (Gealy *et al.*, 2003). Namun, terdapat juga sesetengah padi angin mempunyai biji dengan perikarp yang berwarna putih (Arrieta-Espinoza *et al.*, 2005).

Moody (1994) menyatakan infestasi padi angin di Asia Tenggara adalah serius dan berlaku di kawasan tanaman padi yang mengamalkan kaedah

penanaman tabur terus. Azmi *et al.* (1994) melaporkan dalam kajiannya bahawa hasil keluaran padi negara telah menurun sebanyak 54% disebabkan oleh amalan tanaman padi secara tabur terus di Malaysia. Ismail *et al.* (1995) berpendapat bahawa serangan padi angin yang merupakan rumpai yang serius ini telah menjejaskan hasil tanaman padi di kawasan tanaman padi di Malaysia. Mortimer *et al.* (2000) juga menyatakan bahawa dengan kehadiran rumpai yang tidak diperlukan ini telah menjejaskan kuantiti dan kualiti hasil padi sesebuah negara penanaman padi.

Masalah padi angin di Malaysia telah mula dikesan di Projek Barat Laut Selangor (PBLS) pada tahun 1988 dan masalah ini berterusan lagi sehingga telah dikenalpastikan kewujudannya di kawasan penanaman padi *Muda Agricultural Development Authority* (MADA) pula (Azmi & Abdullah, 2003). Kawasan MADA ini menggunakan bekalan air dari sistem Skim Pengairan Sungai Muda ke sawah-sawah yang meliputi negeri Kedah dan Perlis di Semenanjung Malaysia. Punca sebenar kemunculan padi angin atau *Oryza sativa* kompleks ini masih belum jelas, namun, kajian-kajian pihak MARDI menyatakan bahawa amalan tabur terus kering semasa musim kemarau pada tahun 1980an, dan kaedah tabur terus kering yang diamalkan oleh para petani secara meluas mungkin merupakan faktor utama yang mengakibatkan kewujudan padi angin (Abdullah *et al.*, 1996a). Kajian-kajian oleh Zainal (2008), Chin (2001), Watanabe *et al.* (2000), Abdullah *et al.* (1996b), Zuki *et al.* (1995), Williams *et al.* (1990) dan Azmi *et al.* (1998; 1995; 1994) telah membantu mencari penyelesaian kepada permasalahan yang serius ini dalam mengatasi masalah penanaman padi negara. Antara kajian-kajian telah yang

dijalankan adalah dari segi kaedah pengurusan tanaman padi, penggunaan herbisid, penyediaan tanah sebelum tanaman padi, kawalan padi angin, kuantiti saliran air ke plot tanaman serta banyak lagi kajian-kajian dari segi ekologi yang melibatkan keadaan persekitaran tertentu. Di samping itu, penggunaan biji benih yang tercemar dan perkongsian mesin-mesin tuai dari satu kawasan ke satu kawasan sawah padi yang lain juga merupakan faktor yang menyumbang kepada masalah ini (Azmi *et al.*, 2005). Kehadiran pokok-pokok padi seperti ini dalam petak-petak sawah untuk beberapa generasi selepas tanaman asal, mungkin mengakibatkan pemilihan semulajadi terhadap jenis padi yang mudah luruh ini (Abdullah *et al.*, 1996a).

Keadaan infestasi ini tidak menunjukkan banyak perubahan walaupun telah banyak kajian untuk mengatasinya giat dilaksanakan. Antara kajian awal tentang genetik adalah yang melibatkan asal-usul serta aliran gen dan lain-lain analisis genetik ada juga dilaksanakan oleh Watanabe *et al.* (2000) dan Abdullah *et al.* (1996a) namun, ianya agak terhad dan masih boleh dikembangkan lagi. Oleh yang demikian, kajian ini adalah penting untuk menentukan varian-varian padi angin yang hadir serta hubungan genetik antara mereka. Watanabe *et al.* (2000) menyatakan bahawa kawasan tanaman yang berbeza akan menghasilkan variasi genetik yang berbeza berdasarkan dari mana biji benih diperolehi dan bagaimana amalan penanamannya dilakukan. Oleh itu, variasi morfologi dan genetik yang mungkin dipamerkan oleh varian padi angin dan kultivar di kawasan MADA juga adalah unik dan berbeza berbanding dengan tempat-tempat lain di dunia. Hasil kajian ini boleh dijadikan sumber maklumat kepada kajian-kajian akan

datang dalam menyelesaikan masalah serangan padi angin yang berterusan hingga kini.

## **1.2 Objektif Kajian**

Secara umumnya, objektif kajian ini adalah:

- 1) mengenalpasti ciri-ciri morfologi varian-varian padi angin dan dua varian kultivar MR 211 dan MR 220 yang terdapat di kawasan penanaman padi MADA,
- 2) mengenalpasti variasi dan hubungkait genetik antara varian-varian padi angin dan dua varian kultivar MR 211 dan MR 220 yang terdapat di kawasan penanaman padi MADA dan
- 3) mengenalpasti hubungkait genetik antara populasi bagi varian padi angin yang dominan berdasarkan pencetus-pencetus DNA mikrosatelit yang digunakan.

Kajian ini melibatkan pemerhatian di plot-plot tanaman padi MADA dan penanaman varian-varian padi angin dan kultivar untuk analisis morfologi yang bermula dari Jun 2005 sehingga Disember 2008. Di samping itu, analisis genetik juga dilakukan melalui pengekstrakan DNA dari daun pokok padi, pengoptimuman Tindakbalas Berantai Polimerase (PCR) dengan penanda-penanda DNA mikrosatelit. Amplifikasi DNA mikrosatelit terhadap varian padi angin serta dua jenis kultivar MR 211 dan MR220 dilaksanakan untuk menentukan bilangan alel yang diperolehi daripada setiap lokus DNA



mikrosatelit. Analisis genetik DNA mikrosatelit bagi sampel varian yang dominan yaitu jenis panikel tertutup (T) (setelah melalui pengiraan Indeks Spesies Dominan Berger-Parker 1970) (Magurran,1988) yang dikutip dari sepuluh plot tanaman padi di kawasan MADA yang berbeza juga dilaksanakan untuk mengenalpasti variasi genetik antara populasi berkenaan.

## BAB DUA

### TINJAUAN BAHAN BACAAN

#### 2.1 *Oryza sativa* kompleks (Padi angin)

*Oryza sativa* kompleks juga dikenali sebagai padi angin di Malaysia. Padi angin diberi nama sedemikian disebabkan oleh sifat biji-bijinya yang mudah lerai apabila matang. Nama padi angin adalah berbeza antara negara-negara di dunia, contohnya padi angin dikenali sebagai '*Red rice*' di Amerika, '*Akamai*' di Japan, '*Lutao*' di China, '*Sharei*' di Korea '*Khao pa*' di Laos dan di Thailand (Watanabe *et al.*, 1999).

Padi angin, tergolong dalam famili Gramineae, kelas Liliopsida dan Genus *Oryza* dalam tumbuhan berbunga. Klasifikasi padi angin adalah seperti Jadual 2.1.

**Jadual 2.1 :** Klasifikasi taksonomi padi angin

|          |                     |
|----------|---------------------|
| Alam     | Plantae             |
| Divisi   | Magnoliophyta       |
| Kelas    | Liliopsida          |
| Subkelas | Commelinidae        |
| Order    | Poales              |
| Famili   | Gramineae           |
| Genus    | <i>Oryza</i>        |
| Spesis   | <i>Oryza sativa</i> |

(Sumber: Hoagland & Paul, 1978)

Padi angin bertabur dengan luas di kawasan tanaman padi di seluruh dunia terutamanya Asia Selatan, Asia Tenggara, Amerika dan Eropah Selatan (Ferrero *et al.*, 1999). Klasifikasi taksonomi padi angin adalah sama seperti klasifikasi taksonomi padi biasa tetapi padi angin dibezakan daripada padi biasa dengan mempunyai sifat biji benih yang mudah relai dan mempunyai sifat kedormanan yang tinggi (Mai *et al.*, 2000). Kemunculan padi angin mengakibatkan penurunan hasil padi dan ia juga mempengaruhi kualiti padi komersial (Hoagland dan Paul, 1978). Secara am padi angin adalah mirip kepada padi komersial yang ditanam oleh petani-petani dari segi ciri-ciri pertumbuhan, kepelbagaian morfologi serta taksonominya (Kwon *et al.*, 1992). Keadaan ini adalah kerana berlakunya aliran gen dalam evolusi benih-benih padi yang menurut beberapa kajian ada menyatakan hibridisasi secara semulajadi telah berlaku antara padi liar dan padi kultivar (Song *et al.*, 2002; Vaughan & Morishima, 2001; Morishima & Oka 1995; Langevin *et al.*, 1990 ).

Kebanyakan padi angin mempunyai biji dengan perikarp yang berwarna merah dan dikenali sebagai '*Red rice*' (Gealy *et al.*, 2003). Namun, terdapat juga sesetengah padi angin mempunyai biji dengan perikarp yang berwarna putih (Arrieta-Espinoza *et al.*, 2005).

Perbandingan antara padi angin dengan kultivar MR 211 dan MR 220 dilaksanakan kerana padi jenis ditanam di kawasan MADA pada masa kajian dilaksanakan. Padi jenis MR 211 telah diisytiharkan sebagai padi yang menghasilkan pengeluaran yang tinggi, mempunyai kerintangan kepada penyakit karah dan penyakit hawa bakteria yang tinggi. Tempoh matangnya pula ialah selama 110 hingga 120 hari dengan purata hasil sebanyak 6000 kg/

hektar (Omar *et al.*, 1999). Manakala kultivar padi komersial MR 220 pula dipilih kerana telah diisytiharkan pada 10 Oktober 2003 (sebagai menggantikan kultivar MR 219) secara rasmi sebagai jenis padi yang boleh memberikan hasil yang lebih tinggi iaitu purata 7500 kg/hektar dengan pengurusan ladang yang baik. Tanaman padi jenis ini adalah popular di kawasan amalan padi secara tabur terus dan mempunyai kerintangan yang tinggi terhadap penyakit karah dan hawar bakteria. Tempoh matang padi MR 220 adalah antara 105 hingga 115 hari (Hiromi *et al.*, 1996).

## **2.2 Status *Oryza sativa* kompleks di Dunia**

Kajian-kajian terdahulu telah menunjukkan infestasi *Oryza sativa* kompleks atau lebih dikenali sebagai padi angin oleh masyarakat tempatan adalah agak serius di kebanyakan negara di seluruh dunia. Pyon *et al.* (2000) menyatakan bahawa padi angin merupakan infestasi yang amat serius di kawasan tanaman padi secara tabur terus. Kehilangan hasil tanaman padi yang tinggi disebabkan oleh kehadiran *Oryza sativa* kompleks berlaku dengan amat ketara di kawasan pertanian bersuhu lembap dan di kawasan tropika (Buchanan, 1977). Teerawatsakul (1981) melaporkan dalam kajiannya bahawa infestasi padi angin berlaku di kawasan tanaman amalan tabur terus di Thailand hingga menyebabkan kehilangan hasil padi negara tersebut sebanyak 25% hingga 50%. Kajian oleh Kim *et al.* (1995) pula menyatakan bahawa negara Korea juga mengalami kerugian sebanyak 40% hasil pengeluaran padi negara kerana berhadapan dengan serangan padi angin.

Infestasi ini menular ke negara-negara seperti India, Filipina, Vietnam dan Myanmar (Moody, 1994; Vaughan, 1994). Azmi *et al.* (1994) melaporkan hasil keluaran padi negara telah menurun sebanyak 54% disebabkan oleh amalan tanaman padi secara tabur terus di Malaysia. Manakala di Surinam dan Nepal pula, infestasi ini juga agak ketara berlaku apabila amalan tabur terus biji-biji benih kering ke petak-petak sawah dilaksanakan. Secara kasarnya, anggaran kerugian hasil dunia telah mencecah sehingga 12% di sesetengah tempat dan meningkat setinggi 25% bagi negara-negara di kawasan tropika (Gupta & Upadhyay, 2000).

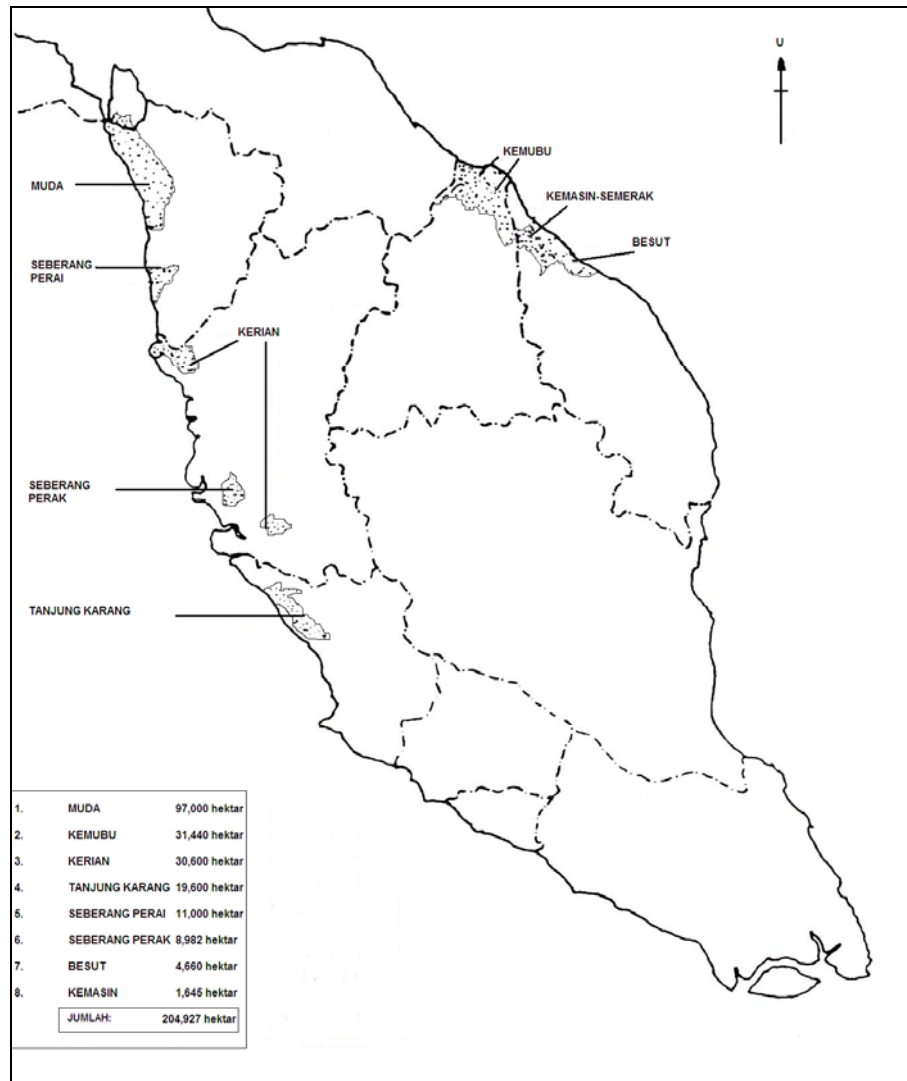
Moody (1994) menyatakan infestasi padi angin di Asia Tenggara adalah serius dan berlaku di kawasan tanaman padi secara tabur terus. Mortimer *et al.* (2000) juga menyatakan bahawa dengan kehadiran rumpai yang tidak diperlukan ini telah menjejaskan kuantiti dan kualiti hasil padi sesebuah negara yang terlibat dengan penanaman padi. Amalan tanaman padi secara tabur terus telah dilaksanakan secara meluas di kawasan penanaman padi di dunia. Bres-Patry *et al.* (2001) berpendapat bahawa infestasi padi angin berlaku di kebanyakan kawasan-kawasan tropika dan subtropika dunia yang melaksanakan amalan kaedah tabur terus biji-biji benih ke dalam plot sawah padi.

Negara-negara luar seperti Amerika Latin dan Amerika Utara, Caribbean, Afrika, Asia dan Asia Tenggara juga adalah antara negara yang mengalami infestasi padi angin di kebanyakan kawasan pertanian padi (Oka, 1988). Kajian-kajian telah menunjukkan bahawa padi angin adalah terhasil dengan banyaknya sekiranya penanaman secara tabur terus (*'directly seeded'*)

diamalkan (Ishikawa *et al.*, 2005; Yu *et al.*, 2005; Federici *et al.*, 2001; Suh *et al.*, 1997; Vaughan, 1994; Oka, 1988; Diarra *et al.*, 1985). Keadaan ini telah memberi impak kehilangan hasil padi yang besar kepada negara-negara tersebut. Antaranya, di Costa Rica, infestasi padi angin ini telah menyebabkan kehilangan hasil padi dengan anggaran sebanyak 60% di kebanyakan kawasan-kawasan penanaman padi di negara itu (Arrieta-Espinoza *et al.*, 2005).

### **2.3 Padi Angin di Malaysia**

Malaysia mempunyai kawasan penanaman padi seluas 204,927 ha, yang ditanam di lapan kawasan utama di Semenanjung Malaysia (Rajah 2.1) iaitu Kawasan Sungai Muda (MADA) meliputi 97,000 ha (Begum *et al.*, 2005b) diikuti kawasan Kemubu di Kelantan (31 440 hektar), Kerian di Perak (30 600 hektar), Projek Barat Laut Selangor (PBLs), Tanjung Karang (19 600 hektar), Seberang Perak (8 982 hektar), Kemasin-Semerak, Kelantan (1 645 hektar), Besut, Terengganu (4 660 hektar) dan Seberang Perai, Pulau Pinang (11 000 hektar). Walaubagaimanapun, kawasan MADA adalah kawasan yang terbesar iaitu meliputi 46% daripada kawasan keseluruhan jelapang padi Malaysia (Abdullah & Muhammad, 2001).



**Rajah 2.1:** Taburan kawasan tanaman padi di Semenanjung Malaysia  
(Sumber: MADA, 1992)

Skim Pengairan Muda (MADA) telah dirancang oleh kerajaan Malaysia di bawah Rancangan Malaysia Pertama (RMK 1) pada tahun 1966 hingga 1970 dengan keutamaan diberikan kepada pembinaan dua buah empangan yang besar, terusan, saluran dan juga longkang-longkang bagi kawasan sawah-sawah padi di negeri Kedah dan Perlis. Kawasan Sungai Muda ini meliputi kawasan-kawasan seluas 65 kilometer panjang dan 25

kilometer lebar. Kawasannya adalah rata dan tersebar di '*coastal alluvial*' dalam negeri Kedah dan Perlis serta terbahagi kepada beberapa lokasi seperti A1..A1V (Arau,Kodiang,Hutan Kampung), B1..B1V (Kayang, Sanglang, Alor Seribong, Pengkalan Kundor), C1..C1V (Kangar, Kerpan, Tajar, Kangkong), D1..D1V (Tambun Tulang, Tunjang, Titi Idris ), E1..E1V (Simpang Empat, Kubang Sepat, Kobah,Bukit Besar), F1..F1V (Jerlun, Pendang, Sungai Limau Dalam) dan G1..G1V (Jitra, Guar Cempedak). Kawasan Skim Terusan Muda ini adalah yang terluas yang mengamalkan tanaman padi dua kali setahun yang meliputi 97,000 hektar. Skim Pengairan Muda ini telah dapat membantu para petani tempatan mengamalkan penanaman padi sebanyak dua kali setahun sejak tahun 1970 dengan 90% hasil padi negara adalah datangnnya daripada kawasan MADA (Hiromi *et al.*, 1996).

Malaysia adalah antara negara di Asia Tenggara yang mengalami infestasi padi angin. Masalah infestasi padi angin telah dikenalpasti buat pertama kalinya pada tahun 1988 di kawasan Projek Barat Laut Selangor (PBLs), Tanjung Karang (Abdullah *et al.*,1996a; Azmi & Abdullah, 1998; Azmi *et al.*, 2001). Infestasi menjadi semakin serius sehingga merebak ke seluruh jelapang padi Semenanjung Malaysia termasuklah kawasan penanaman padi MADA mulai tahun 1990 (Azmi *et al.*, 2004).

Zainal dan Azmi (1996) menyatakan bahawa infestasi padi angin di kawasan penanaman padi MADA telah meliputi sejumlah 300 hektar pada tahun 1994. Infestasi ini telah bermula apabila berlakunya musim kemarau yang serius pada hujung tahun 1980'an dan mengakibatkan masalah pengaliran bekalan air yang mencukupi ke petak-petak tanaman padi untuk



pertumbuhan anak-anak benih padi (Bakar *et al.*, 2000). Di samping itu, secara semulajadinya telah juga berlaku pendebungaan silang antara padi komersial dengan padi batat '*off type*' (jenis rumpai) yang menyumbang juga kepada berlakunya masalah padi angin di kawasan MADA pada tahun 1993 (Abdullah & Muhammad, 2001).

Oleh yang demikian, banyak hasil tani telah menurun dalam aspek kuantiti dan juga kualiti. Azmi *et al.* (2005) dalam kajiannya ada menyatakan bahawa antara beberapa sebab kejadian infestasi di kawasan MADA ini adalah i) amalan tabur terus yang meluas, ii) penggunaan biji benih padi komersial yang agak mudah relai dan iii) penggunaan jentera bajak yang dikongsi dari satu tempat ke satu tempat telah menyumbang kepada infestasi yang serius ini. Keadaan ini telah dipersetujui juga oleh petani-petani tempatan yang ditemubual sejak bulan Mac 2005 hingga April 2008. Para petani menyatakan bahawa amalan tanaman padi secara mencedung di kawasan MADA kurang dilaksanakan oleh kerana kebanyakan petani di kawasan penanaman padi MADA telah mengamalkan kaedah menabur terus ('direct-seeding'). Hanya sebahagian kawasan sahaja yang masih mengamalkan penanaman padi secara mencedung (Abdullah *et al.*, 1996a). Ismail *et al.* (1995) juga berpendapat bahawa serangan padi angin yang serius ini telah menjejaskan hasil tanaman padi di kawasan tanaman padi di Malaysia. Walaupun para petani memperolehi biji-biji benih padi yang berkualiti dari bank biji benih MARDI, namun amalan tabur terus ke dalam petak-petak sawah tanpa melalui kaedah mencedung iaitu melakukan pertumbuhan anak benih padi di tempat lain sebelum memindahkan ke petak

sawah, boleh menyumbang kepada infestasi padi angin di kawasan MADA (Karim et al., 2004). Gambarfoto 2.1 menunjukkan infestasi padi angin yang serius di salah satu lokasi di kawasan MADA.



**Gambarfoto 2.1** Kawasan sawah padi didominasi oleh populasi padi angin di Kobah, Kedah.

Dengan terabainya kaedah mencedung ini, Moody (1994) yang menyatakan bahawa infestasi padi angin di Asia Tenggara adalah serius berlaku di kawasan tanaman padi yang dilaksanakan secara tabur terus biji-biji benih kering ke dalam petak-petak sawah. Di samping itu, Ho (1991) juga menyatakan bahawa sebanyak 40% dari kawasan tanaman MADA telah menggunakan amalan tabur terus yang telah menyebabkan keadaan infestasi

semakin serius. Manakala Azmi *et al.*(1994) juga melaporkan dalam kajiannya bahawa hasil keluaran padi negara telah menurun sebanyak 54% disebabkan oleh amalan tanaman padi secara tabur terus di Malaysia. Oleh yang demikian, amalan tabur terus kering ke dalam petak sawah walaupun cepat dan menjimatkan kos pembiayaan pekerja sawah namun, hasilnya adalah tidak memuaskan kerana amalan ini telah mengakibatkan terhasil juga padi batat 'off type' yang sangat serupa dengan padi komersial secara morfologinya (Abdullah & Muhammad, 2001).

Padi angin mempamerkan buah atau biji benih yang bersifat mudah relai atau mudah gugur apabila dikenakan hanya sedikit tekanan atau genggaman (Azmi *et al.*, 2005) (Gambarfoto 2.2). Padi angin tumbuh dengan cepat, matang awal daripada padi komersial yang ditanam. Kajian-kajian yang telah dilaksanakan oleh Azmi dan Karim(2008), Begum *et al.*(2005a & 2005b), Azmi *et al.*( 2005, 2001, 1994), Karim *et al.*(2004), Tomita *et al.* (2003), dan De Datta (1981) terhadap amalan penanaman padi dalam sistem agro sesuatu kawasan tanaman padi mendapati bahawa perubahan amalan penanaman boleh menyebabkan berlakunya infestasi rumpai seperti padi angin di sawah-sawah.

Di samping itu, Kim *et al.* (1995) pula mendapati bahawa rumpai seumpama padi angin terjadi disebabkan oleh faktor-faktor biotik dan abiotik seperti kandungan bahan organik atau inorganik tanah, suhu serta iklim sesuatu kawasan tanaman menghasilkan perbezaan pada tumbuhan yang hadir dari segi morfologi maupun genetiknya. Rao (2000) dan Poggio *et al.* (2004) pula berpendapat bahawa amalan pengurusan penanaman padi kultivar di petak-petak sawah dipengaruhi oleh sistem pengairan, penggunaan

baja, penggunaan racun serangga, bilangan putaran tanah dalam persediaan tanaman, pH tanah, kandungan nutrien dalam tanah serta kelembapan udara sesuatu kawasan tanaman padi.



**Gambarfoto 2.2:** Padi angin panikel terbuka yang mudah lerai apabila dikenakan sedikit tekanan

#### **2.4 Kajian Morfologi Varian Padi Angin**

Beberapa kajian tentang morfologi padi angin telah dilaksanakan oleh pengkaji di Vietnam, iaitu Mai *et al.* (2000) dan mendapati bahawa peratus petani-petani yang dapat mengenalpasti padi angin di negara tersebut adalah berdasarkan ciri-ciri yang tersenarai dalam Jadual 2.2.

Bakar *et al.* (2000) juga menyatakan bahawa padi angin mudah dibezakan daripada padi komersial oleh kerana ketinggiannya yang jelas lebih tinggi daripada padi kultivar, mempamerkan warna daun hijau yang lebih muda daripada padi kultivar serta mempunyai kulma yang lebih berbentuk selinder berbanding dengan padi kultivar. Manakala Chung dan Paek (2003) mengkategorikan padi angin sebagai pokok padi yang lebih tinggi, mempunyai daun yang banyak, biji benih relai awal dengan sedikit tekanan serta bersaing hebat dengan padi komersial.

**Jadual 2.2 :** Ciri-ciri yang dipamirkan oleh varian-varian padi angin di Vietnam

| <b>Bil</b> | <b>Ciri-ciri</b>                                 | <b>Peratus</b> |
|------------|--|----------------|
| 1.         | Ketinggian yang amat jelas berbeza dari kultivar | 90.6%          |
| 2.         | Biji benih mempunyai janggut                     | 89.5%          |
| 3.         | Biji benih relai/ gugur awal                     | 73.6%          |
| 4.         | Kulit biji berpigmen                             | 77.2%          |
| 5.         | Berbunga awal dari kultivar                      | 25.8%          |
| 6.         | Biji benih lebih kecil dari kultivar             | 76.8%          |

Sumber: Mai *et al.*(2000)

Di Malaysia, padi angin mudah ditemui di petak-petak sawah padi di Tanjung Karang dan kawasan MADA mulai pertengahan dan akhir tahun 1980an (Watanabe *et al.*, 2000). Dalam setiap petak sawah padi, terdapat beberapa jenis varian padi angin yang tumbuh berkelompok-kelompok serta bersaing dengan padi kultivar yang ditanam. Terdapat lapan varian padi angin

di kawasan MADA manakala tujuh varian ditemui di Tanjung Karang yang masing-masing dengan morfologi yang berlainan antara varian (Azmi *et al.*, 2001).

Padi angin mempunyai ciri-ciri pertumbuhan yang sama dengan padi yang ditanam. Namun, perbezaan yang ketara juga dapat dilihat pada daun-daun 'pengasuh' (*flag leaf*) yang menghadap kepada arah matahari jatuh. Manakala, pada pokok padi kultivar yang ditanam, daun 'pengasuh'nya adalah menghadap ke arah yang bertentangan iaitu arah matahari naik. Selain daripada itu, padi angin boleh dikenalpasti dengan mudah di peringkat matang kerana pokok padi angin lebih tinggi berbanding padi komersial yang ditanam (Gambarfoto 2.3, 2.4 dan 2.5).



**Gambarfoto 2.3:**Keadaan pokok padi angin yang jelas lebih tinggi berbanding dengan padi komersial di kawasan MADA





**Gambarfoto 2.4:** Pokok padi angin panikel terbuka dan berjanggut kelihatan jelas lebih tinggi dari padi komersial



**Gambarfoto 2.5:** Kultivar *Oryza sativa* MR220 yang matang dan sedia untuk dituai

Padi angin yang membiak dengan biji benih yang gugur dan tersimpan lama di dalam sawah, akan cepat matang dan luruh lebih awal daripada padi yang ditanam. Jumlah biji padi yang terhasil adalah dalam lingkungan 1000 biji dari satu pokok padi adalah lebih kurang sama seperti padi kultivar. Biji benih padi angin bercambah seawal 10 hari selepas ditanam. Di kawasan MADA, biji padi gugur dari tangkainya antara 10 hingga 20 hari lebih awal berbanding varian padi kultivar, MR 84 apabila matang dan biji benih padi angin boleh bersifat dorman sehingga tiga bulan dalam tanah (Azmi & Abdullah, 2003).

Azmi *et al.* (2001) menyatakan bahawa di kawasan MADA, beberapa varian padi angin boleh dikenalpasti berdasarkan morfologi. Perbezaan antara varian-varian adalah merujuk kepada perbezaan pada bentuk tangkai buah sama ada padat atau tidak, serta kehadiran pigmen dan janggut pada biji benih. Terdapat hanya sedikit perbezaan dari segi panjang tangkai, bilangan spikelet setangkai, bilangan biji hampa, dan perbezaan berat bagi 1 000 biji benih antara varian. Biji-biji berpigmen ungu kemerah-merahan juga didapati pada varian padi angin seperti yang terdapat pada padi merah. Ia terbentuk daripada interaksi berterusan pendebungaan silang antara padi angin yang mula-mula wujud dengan padi moden atau padi yang ditanam.

Secara umumnya padi angin dapat dibezakan daripada padi kultivar melalui ketinggian yang sangat nyata berbeza dan ianya dapat dikenalpasti dengan mudah (Zainal & Azmi, 1996). Selain daripada itu, Azmi *et al.* (1994) juga ada menyatakan bahawa terdapat perbezaan-perbezaan dalam panjang kulma, panjang panikel, jumlah spikelet, panjang dan lebar biji-biji padi serta



berat biji-biji padi angin tersebut setelah kajian dilakukan terhadap padi-padi angin dari 18 lokasi yang berbeza.

Padi angin biasanya matang lebih cepat dan luruh lebih awal daripada kultivar padi yang ditanam. Keadaan ini berlaku kerana padi angin bercambah lebih awal daripada biji-biji benih padi yang telah dorman sehingga tiga bulan dalam tanah (Azmi & Abdullah, 2003) dan ianya hanya menunggu keadaan yang sesuai untuk bercambah apabila adanya bekalan air yang disalurkan dengan mencukupi. Selain daripada itu, varian-varian padi angin di kawasan MADA juga dikenalpasti dan diklasifikasikan mengikut struktur panikelnnya iaitu dari jenis panikel terbuka atau tertutup (Gambarfoto 2.2 dan 2.4), berjanggut (Gambarfoto 2.4) dan biji-biji padi berpigmen (Gambarfoto 2.6) dan kadang-kadang mempunyai janggut yang merah keperangan. Selain daripada itu, varian-varian yang ditemui juga menunjukkan perbezaan yang ketara dari segi panjang panikel, bilangan spikelet per panikel dan juga berat 1000 biji padi.

Menurut Azmi & Abdullah (2003) lagi, terdapat juga padi angin di sawah-sawah padi di negara kita yang mempunyai biji berpigmen ungu kemerahan (Gambarfoto 2.6) dan sifat ini memudahkan proses pengenalanpastian jenis padi angin apabila mencapai peringkat matang. Namun, semua ciri-ciri morfologi yang dipamerkan oleh padi angin ini adalah tidak dikehendaki dan merupakan fenomena evolusi yang harus diberi perhatian kerana infestasi padi angin ini menjejaskan kualiti pengeluaran hasil padi Negara secara berleluasa. Ciri-ciri morfologi tersebut disenaraikan oleh Watanabe *et al.*, (1999; 1996) seperti yang tersenarai dalam Jadual 2.3.



Perikarp  
berpigmen

**Gambarfoto 2.6:** Biji-biji padi yang mempamerkan perikarp berpigmen dengan panikel Tertutup

**Jadual 2.3:** Ciri-ciri morfologi yang dipamerkan oleh padi angin dalam kajian lampau

| <b>Bil</b> | <b>Aspek</b> | <b>Ciri</b>         | <b>Penerangan ciri-ciri</b>   | <b>Kesan pada pokok padi</b>                                       |
|------------|--------------|---------------------|---|--|
| 1.         | Morfologi    | Kulma<br>Biji benih | Kulma yang panjang<br>Biji yang pendek,<br>kecil dan berpigmen.<br>Perikap berwarna | Mudah rebah<br>Menjejaskan/<br>menurunkan kualiti<br>padi kultivar |
|            |              | Janggut             | Ada / Tiada janggut   | Menjejaskan/<br>menurunkan kualiti<br>padi kultivar                |
| 2.         | Ekologi      | Mudah relai         | Relai secara spontan<br>walaupun tanpa<br>tekanan                                   | Meningkatkan<br>bank biji benih<br>dalam tanah                     |
|            |              | Kedormanan          | Biji benih yang<br>dorman   | Sukar dikawal  |
|            |              | Percambahan         | Berubah-ubah  | Menyesuaikan diri<br>dengan tabur terus<br>basah                   |
| 3.         | Fisiologi    | Herbisid pilihan    | Tolerans kepada<br>herbisid padi  | Kurang memberi<br>kesan kepada<br>kawalan kimia                    |

(Sumber: Watanabe *et al.*, 1999;1996)

## 2.5 Penanda DNA dalam Kajian Genetik

Para saintis telah berjaya mengesan variasi genetik bagi sesuatu populasi, spesies atau individu melalui analisis maklumat genom dengan menggunakan penanda molekul seperti penanda berasaskan DNA. Kajian genetik adalah penting untuk memastikan kemandirian spesies haiwan serta tumbuhan tidak pupus dari alam ini melalui pengubahsuaian atau pemindahan bahan genetik dalam bidang kejuruteraan genetik oleh pakar-pakar genetik. Antaranya seperti pelbagai gen keimunan, gen tumbesaran dan pengacukan

untuk mempertingkatkan hasil pertanian juga telah berjaya dihasilkan untuk kepentingan bersama (Itam & Hazli, 2000). Selain daripada itu, Avise (1994) berpendapat bahawa penggunaan penanda molekul dalam kajian molekul genetik adalah sangat berpotensi untuk menyediakan maklumat yang berkaitan dengan sesuatu spesimen dari sumber yang dikaji yang diperlukan dalam penguatkuasaan undang-undang.

Tindakbalas Berantai Polimerase (PCR) diperkenalkan oleh Kary Mullis iaitu seorang ahli sains Amerika pada tahun 1983. PCR merupakan tindak balas kompleks yang ditakrifkan sebagai kaedah *in-vitro* untuk menghasilkan satu kuantiti besar jujukan DNA spesifik daripada kuantiti kecil DNA asal (Randall *et al.*, 1990) atau teknik yang digunakan untuk mengamplifikasi jutaan jujukan DNA terpilih dari sesuatu genom dan membolehkan jujukan dipencilkan sama ada daripada genom yang kompleks atau gen salinan tunggal (Othman, 2004). Dalam teknik ini, suatu molekul tunggal boleh diamplifikasi berjuta-juta kali dalam beberapa jam sahaja (Randall *et al.*, 2007).

Kajian genetik tumbuhan di MARDI telah membantu saintis-saintis menghasilkan penanda-penanda genetik untuk pelbagai kajian berkaitan genetik populasi atau spesies dalam pengurusan sumber alam serta pemuliharaannya. Pemilihan dan kesesuaian teknik-teknik untuk mendapatkan penanda molekul bagi mengesan polimorfisme pada sesuatu tahap DNA adalah bergantung kepada permasalahan yang ingin diselesaikan oleh pengkaji.

Penanda mikrosatelit adalah merupakan penanda yang sangat spesifik boleh digunakan untuk sesuatu spesies yang tertentu, maka ini boleh

mengurangkan berlakunya keadaan pencemaran silang oleh organisma bukan sasaran berbanding dengan teknik lain yang hanya menggunakan penanda universal seperti Polimorfisme Panjang Jalur Teramplifikasi (AFLP) (Selkoe & Toonen, 2006). Tambahan pula, penanda mikrosatelit juga adalah lebih tepat dan sangat berkesan untuk digunakan dalam kajian populasi genetik sesuatu spesis berbanding AFLP dan Polimorfisme DNA Rawak Teramplifikasi (Schlotterer & Pemberton, 1998). Walaupun AFLP boleh juga dianggap sebagai penanda alternatif yang baik daripada penanda mikrosatelit (Bensch & Akesson, 2005) namun, Gerber *et al.* (2000) pula menyatakan bahawa lokus AFLP adalah kurang sensitif untuk mengenalpasti hubungan genetik antara populasi sesuatu spesies.

Selain teknik mikrosatelit DNA, teknik hibridisasi DNA seperti Polimorfisme Panjang Jalur Terpotong (RFLP) dan Teknik Variasi Bilangan Jujukan Berulang (VNTR) tanpa melalui kaedah PCR boleh juga digunakan untuk pengesanan polimorfisme sesuatu DNA atau untuk mengkaji kepelbagaian variasi jalur DNA (Othman, 2004). Melalui RFLP kedua-dua alel gen akan dapat dikesan dalam individu heterozigot kerana sifat ko-dominannya. Di samping RFLP, kaedah VNTR juga merupakan antara kaedah hibridisasi DNA yang menggunakan prob-prob khas untuk mengenalpasti jujukan minisatelit (10 hingga 60 bp) atau mikrosatelit (1 hingga 5 bp) yang berulang. Pencerapan dengan menggunakan kaedah ini adalah bergantung kepada jumlah bilangan ulangan yang hadir di dalam sesuatu individu atau spesies. Selain daripada AFLP, teknik Polimorfisme DNA Rawak Teramplifikasi (RAPD) yang diperkenalkan oleh Williams *et al.* (1990) juga